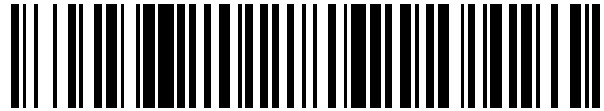


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 500 046**

51 Int. Cl.:

A23L 1/00

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.08.2011 E 11746732 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.06.2014 EP 2603208**

54 Título: **Proceso para la fabricación de una cápsula estable de gel blando que contiene bacterias probióticas microencapsuladas**

30 Prioridad:

10.08.2010 US 372350 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

29.09.2014

73 Titular/es:

**R.P. SCHERER TECHNOLOGIES, LLC (100.0%)
c/o CSC Services of Nevada, Inc., 502 East John
Street
Carson City, NV 89706, US**

72 Inventor/es:

**VALLA, CLAUDIA;
BERTOLAMI, ROSA;
ROSINA, GIOVANNI y
HELSON, KAREN**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 500 046 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Proceso para la fabricación de una cápsula estable de gel blando que contiene bacterias probióticas microencapsuladas.

Campo de la invención

5 Esta invención se relaciona con un proceso para fabricar una cápsula de gel blando que contiene bacterias probióticas microencapsuladas y con el producto elaborado de acuerdo con este proceso. Más específicamente, el producto de la invención es estable a temperatura ambiente durante por lo menos 24 meses.

Antecedentes de la invención

10 Los probióticos son adyuvantes dietéticos a base de base microbios que afectan de forma benéfica la fisiología del huésped mediante la modulación la inmunidad sistémica y de la mucosa, así como mejorando la función intestinal y el balance microbiano en el tracto intestinal (Naidu, A. S., et al. (1999), Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB). Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 39: 3 - 126). Se han atribuido diferentes efectos nutricionales y terapéuticos a estos probióticos, incluyendo: modulación de la respuesta inmune, disminución de las concentraciones de colesterol en suero, mejoramiento de los síntomas de intolerancia a la lactosa, aumento de la resistencia a enfermedades intestinales infecciosas, disminución de la duración de la diarrea, reducción de la presión sanguínea y ayuda en la prevención del cáncer de colon.

15 Sin embargo, para poder ejercer estos efectos benéficos sobre el huésped, los probióticos deben mantener su viabilidad y alcanzar el intestino grueso en grandes cantidades (Favaro-Trindade, C. S., et al. (2002), J Microencapsulation 19(4): 485 - 494)). Las bacterias probióticas efectivas deben ser capaces de sobrevivir en condiciones gástricas y colonizar el intestino, por lo menos temporalmente, adhiriéndose al epitelio intestinal (Conway, P. (1996), Selection criteria for probiotic microorganisms. Asia Pacific J. Clin. Nutr 5: 10 - 14).

20 Las bacterias ácido lácticas o lactobacilos, son los probióticos más comúnmente utilizados para la incorporación en los productos lácteos, tales como yogures, leches fermentadas y kéfires, y su uso está aumentando continuamente. Por ejemplo, se añaden ahora en forma de suplementos lácteos, tales como polvos, cápsulas y tabletas. Las bifidobacterias y estreptococos son microorganismos probióticos también comúnmente utilizados. En general, los bacilos ácido lácticos requieren de un sistema de suministro efectivo que mantenga una actividad probiótica funcional (es decir, adhesión / retención en el intestino, producción de bacteriocinas / enzimas) después de su reanimación (Salminen, S., et al. (1996), Clinical uses of probiotics for stabilizing the gut mucosal barrier: successful strains and future challenges. Antonie Van Leeuwenhoek 70: 347 - 3581). Además, aparte del aumento de la viabilidad *in vivo* y de la duración en el tracto gastrointestinal, una vida útil más prolongada a temperatura ambiente continua siendo un reto en la fabricación de productos comerciales efectivos. Aunque la liofilización de las bacterias probióticas ha demostrado que es un proceso efectivo para la preservación y suministro de probióticos, varios factores fisicoquímicos, tales como la humedad, la aireación (disponibilidad de oxígeno), el procesamiento (es decir, la agitación) y la temperatura, podrían comprometer la viabilidad celular y, por lo tanto, la vida útil.

25 La estabilidad y la viabilidad (es decir, el contenido microbiano viable) y la calidad de los productos que contienen bacterias probióticas, han sido problemáticas, como se evidencia por medio de la literatura científica. En un estudio relacionado con yogures, los experimentos evidenciaron que de 3 a 6 productos analizados no contenían trazas de microorganismos vivos y dos contenían solamente concentraciones bajas. Shah (2000) Journal of Dairy Science, 83(4): 894 - 907. Se han publicado reportes similares con respecto a productos que contienen bacterias probióticas distribuidas en formas de dosificación sólida, tales como polvos, cápsulas y tabletas. Los retos predominantes para la estabilidad de las bacterias probióticas son la actividad en agua, el estrés físico del procesamiento y la temperatura. También ha sido un reto la aplicación de medidas de protección, tales como recubrimientos, que liberaran las bacterias probióticas en el sitio de suministro apropiado en el cuerpo y permiten que los probióticos colonicen. El suministro y colonización apropiados de las bacterias probióticas recubiertas ha sido confirmado recientemente en un estudio publicado hace poco (Del Piano, M., et al. (2010), Evaluation of the intestinal colonization by microencapsulated probiotic bacteria in comparison to the same uncoated strains, Journal of Clinical Gastroenterology, 44 Supp. 1: S42 - 6).

30 Se han utilizado suspensiones en aceite para aumentar la viabilidad y la vida útil de los probióticos. Por ejemplo, la publicación de la solicitud de patente de los Estados Unidos No. 2004/0223956 describe una composición que contiene bacterias probióticas suspendidas en un aceite comestible y, opcionalmente, encapsuladas en cápsulas de cubierta dura de dos piezas.

Además, aquellos capacitados en la técnica han intentado usar microesferas probióticas para mejorar la viabilidad y la vida útil. Por ejemplo, la publicación de la solicitud de patente de los Estados Unidos No. 2005/0266069 describe

formulaciones probióticas que contienen microesferas probióticas que tienen un núcleo de bacterias probióticas y un excipiente celulósico recubierto con agentes de recubrimiento y plastificantes.

5 La experiencia ha demostrado ampliamente que los compuestos farmacéuticos u otros productos para consumo humano o animal, pueden empacarse en forma segura y conveniente en una cubierta de gelatina dura o blanda (gel blando).

Las cápsulas blandas de una sola pieza o geles blandos rellenos son muy conocidos y ampliamente utilizados durante muchos años y para una variedad de propósitos y son capaces de retener un material de relleno líquido. Más frecuentemente, los geles blandos se usan para encerrar o contener materiales consumibles, tales como vitaminas, minerales, frutas y extractos botánicos y farmacéuticos en un vehículo o soporte líquido.

10 La encapsulación dentro de una cápsula blanda de una solución o dispersión de un agente nutricional o farmacéutico en un portador líquido, ofrece muchas ventajas sobre otras formas de dosificación, tales como tabletas sólidas recubiertas o sin recubrimiento, comprimidas, o preparaciones líquidas a granel. La encapsulación de una solución o dispersión permite un suministro preciso de una dosis unitaria. Las cápsulas blandas proporcionan una forma de dosificación que es fácil de tragar y no necesitan la adición de saborizante, una buena barrera contra el
15 oxígeno (es decir, una baja permeabilidad al oxígeno a través de la cubierta de la cápsula) y una protección contra la manipulación. Las cápsulas blandas también se transportan más fácilmente que los productos y líquidos alimenticios, tales como yogur y leche.

Los probióticos se encuentran comercialmente disponibles en cápsulas de gelatina sin costuras o blandas. Bifa-15^{MR} (Eden Foods, Inc., Clinton, Mich.) es un sistema de suministro de microencapsulación sin costuras para bifidobacterias, que se reivindica que contienen tres billones de bacterias. Las cápsulas se mezclan con oligosacáridos, edulcorantes y saborizantes y se presentan en tubos de aluminio de dosis unitaria, enrollados individualmente. Los contenidos se vierten en la boca, siempre y cuando las cápsulas sean tragadas completamente y no masticadas. Ultra-Dophilus^{MR} (Nature's Plus, Melville, N.Y.) es una cápsula de gelatina blanda de tamaño convencional, que contiene dos billones de *L. acidophilus* liofilizados, viables. Probiotocs12Plus^{MR} son cápsulas
25 blandas que contienen 12 cepas de bacterias ácido lácticas con el objetivo de potenciar las 900 unidades formadoras de colonias en el momento de la fabricación, y que no requieren refrigeración. Aunque cada producto declara una viabilidad en el momento de la fabricación, no existe garantía de que lo consignado en la etiqueta se cumpla durante el almacenamiento posterior a temperatura ambiente, por ejemplo, 22 - 25°C, en el futuro. Problemas similares para mantener la viabilidad en los probióticos contenidos en las cápsulas de gelatina, también
30 son evidentes a partir de la literatura de patentes.

La publicación internacional WO 2008/046625 describe un método para la preparación de una suspensión para la encapsulación de sustancias sensibles al calor y a la humedad en cápsulas, sobrecitos, gotitas y composiciones alimenticias, así como para productos encapsulados y métodos para almacenar productos encapsulados. En una
35 realización, se preparan cápsulas de gelatina blanda que comprenden *Lactobacillus acidophilus* usando partículas que tienen un tamaño inferior a 178 µm, la suspensión de las partículas en una composición que incluye aceite de girasol, cera de abejas, monoglicéridos y lecitina y la mezcla y encapsulación en una cápsula de gelatina blanda.

Los geles blandos en la técnica que contienen bacterias probióticas han sido ampliamente insatisfactorios. Las formulaciones de gel blando no han mantenido la viabilidad deseada, a menudo medida en unidades de formación de colonias (CFU, por sus siglas en inglés), para la vida útil designada del producto (típicamente 2 años),
40 especialmente a temperatura ambiente. La viabilidad de las bacterias probióticas ha tendido a disminuir muy rápidamente para ser exitosa. Se cree que esto es debido en parte a la alta actividad acuosa *A_w* (agua libre) en el ambiente del gel blando. Este gradiente de *A_w* está relacionado con el proceso de producción mismo del gel blando (particularmente la fase de encapsulación). Durante esta fase, algo del agua presente en la cubierta de la cápsula migra hacia la formulación dentro de la cubierta, en donde está retenida en forma libre. En el caso de una
45 formulación que contiene bacterias probióticas, el agua libre activa las bacterias probióticas provocándoles la muerte dentro poco después.

Además, el proceso de fabricación de un gel blando reta la estabilidad de las bacterias probióticas dentro del gel blando, ya que puede estresar las bacterias probióticas, incluso si están recubiertas, por lo que se reduce la viabilidad y la estabilidad.

50 Por lo tanto, existe la necesidad de proporcionar una mayor viabilidad y estabilidad de las bacterias probióticas, en productos después de un almacenamiento prolongado a temperatura ambiente, ya que esto continúa siendo un reto para la industria. En particular, existe la necesidad de una cápsula de gel blando estable que contenga bacterias probióticas que tengan una mayor viabilidad y vida útil.

Resumen de la invención

La presente invención se relaciona con un proceso para la fabricación de una cápsula de gel blando que contiene bacterias probióticas microencapsuladas que comprende las etapas de: (a) proporcionar bacterias probióticas microencapsuladas con al menos un recubrimiento que comprende por lo menos un lípido vegetal que tiene un punto de fusión entre 35°C y 75°C; (b) suspender las bacterias probióticas microencapsuladas en una formulación en suspensión para formar un relleno; (c) mezclar el relleno a una intensidad de menos de 3.000 rpm y una temperatura por debajo de 33°C para elaborar un relleno mixto; (d) reducir el tamaño de las partículas y separar las partículas de las bacterias probióticas microencapsuladas en el relleno mixto para elaborar un relleno desaglomerado que tiene un tamaño de partícula controlado adecuado para encapsulación; y (e) encapsular el relleno desaglomerado en una cápsula de gel blando, en donde se mantiene la integridad del recubrimiento de las bacterias probióticas microencapsuladas. En una realización preferida, el proceso se lleva a cabo mientras se controla la exposición al oxígeno, y en una realización preferida adicional, la cápsula de gel blando que contiene bacterias probióticas microencapsuladas es estable durante por lo menos aproximadamente 24 meses a temperatura ambiente. En una cierta realización, se reducen los aglomerados de las bacterias probióticas microencapsuladas moliendo el relleno mixto a una temperatura por debajo de aproximadamente 33°C. En otra realización preferida, las bacterias probióticas microencapsuladas después de la encapsulación mantienen un tamaño de diámetro de partícula promedio aproximadamente entre 150 hasta aproximadamente 250 micras, y más preferentemente aproximadamente 200 micras, y cada una de las bacterias probióticas microencapsuladas tiene un tamaño de diámetro de partícula aproximadamente menor a 500 micras.

En una realización preferida de la invención, el recubrimiento de las bacterias probióticas microencapsuladas contiene por lo menos un lípido vegetal seleccionado de poliglicerol éster, grasa de palma hidrogenada, dipalmitoestearato de glicerol, poligliceril-6-distearato y combinaciones de los mismos. En ciertas realizaciones preferidas, la formulación de la suspensión comprende por lo menos un aceite, una grasa de suspensión o un emulsificante o, al menos un aceite y al menos un material seleccionado de grasas de suspensión, emulsificantes y combinaciones de los mismos.

El mezclado en el proceso de la presente invención se realiza preferiblemente a una temperatura entre aproximadamente 15°C y aproximadamente 32°C y a una intensidad menor de aproximadamente 3.000 rpm.

La presente invención también se relaciona con una cápsula de gel blando para probiótico elaborada de acuerdo con el proceso de: (a) proporcionar bacterias probióticas microencapsuladas con por lo menos un recubrimiento que comprende por lo menos un lípido vegetal que tiene un punto de fusión aproximadamente entre 35°C y 75°C; (b) suspender las bacterias probióticas microencapsuladas en una formulación de la suspensión para elaborar un relleno; (c) mezclar el relleno a una intensidad menor a 3.000 rpm y una temperatura por debajo de 33°C para elaborar un relleno mixto; (d) reducir el tamaño de las partículas y separar las partículas de las bacterias probióticas microencapsuladas en el relleno mixto, para elaborar un relleno desaglomerado que tiene un tamaño de partícula controlado adecuado para encapsulación; y (e) encapsular el relleno desaglomerado en una cápsula de gel blando, en donde se mantiene la integridad del recubrimiento de las bacterias probióticas microencapsuladas.

En ciertas realizaciones, la cápsula de gel blando del probiótico se elabora de acuerdo con el proceso llevado a cabo mientras se controla la exposición al oxígeno y es estable durante al menos aproximadamente 24 meses a temperatura ambiente.

Descripción detallada de la invención

La presente invención intenta resolver un problema en la técnica desarrollando un proceso para la fabricación de una cápsula de gel blando estable que contiene bacterias probióticas microencapsuladas, el cual mejora la viabilidad de las bacterias probióticas. Los inventores descubrieron el proceso de la presente invención para fabricar una cápsula de gel blando que contiene bacterias probióticas microencapsuladas, que mantiene una mejor estabilidad a temperatura ambiente y un tamaño de partícula de diámetro promedio de aproximadamente 200 micras, teniendo cada una de las bacterias probióticas microencapsuladas un tamaño de partícula aproximadamente menor a 500 micras.

La primera realización se relaciona con un proceso para la fabricación de una cápsula de gel blando que contiene bacterias probióticas microencapsuladas que comprende las etapas de: (a) proporcionar bacterias probióticas microencapsuladas con al menos un recubrimiento que comprende al menos un lípido vegetal que tiene un punto de fusión entre aproximadamente 35°C y aproximadamente 75°C; (b) suspender las bacterias probióticas microencapsuladas en una formulación de la suspensión para elaborar un relleno; (c) mezclar el relleno a baja intensidad y baja temperatura para elaborar un relleno mixto; (d) reducir los aglomerados de las bacterias probióticas microencapsuladas en el relleno mixto, para elaborar un relleno desaglomerado; y (e) encapsular el relleno desaglomerado en una cápsula de gel blando, en donde se mantiene la integridad del recubrimiento de las bacterias probióticas microencapsuladas.

El proceso de la primera realización de la invención que comprende la etapa de proporcionar bacterias probióticas microencapsuladas con al menos un recubrimiento que comprende por lo menos un lípido vegetal que tiene un punto de fusión entre aproximadamente 35°C y aproximadamente 75°C. Un propósito del recubrimiento de las bacterias probióticas es eliminar el contacto entre las bacterias probióticas y el agua libre, que migra desde la cubierta de la cápsula de gel blando hacia el interior de la formulación del relleno. Las bacterias probióticas se pueden recubrir usando cualquier técnica conocida, incluyendo, pero sin limitarse a, una técnica de lecho fluido que tiene una técnica de rociado superior y/o inferior u otras técnicas de recubrimiento con base en floculación inducida por el pH. El término microencapsulado, como se usa en la presente invención, significa recubierto con una composición. En general, se entiende que la microencapsulación incluye el recubrimiento de partículas que tienen un tamaño inicial aproximadamente menor a una micra y alrededor de aproximadamente 200 micras. Sin embargo, es apropiado un recubrimiento de cualquier espesor razonable, preferiblemente entre aproximadamente 20 hasta aproximadamente 25 micras por capa, siempre y cuando el recubrimiento sea homogéneo y uniforme, sin ningún espacios u orificios, y forme una capa de barrera adecuada. Para los propósitos de la invención, proporcionar bacterias probióticas microencapsuladas puede realizarse mediante la obtención de las bacterias probióticas microencapsuladas disponibles comercialmente, o mediante el recubrimiento de las bacterias probióticas con el recubrimiento descrito.

Puede usarse cualquier bacteria probiótica en la presente invención. Las bacterias probióticas pueden adquirirse a partir de fuentes comerciales o cultivarse (desarrollarse) de acuerdo con métodos conocidos. Los probióticos pertenecen típicamente a los géneros: *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Propionibacterium*, *Leuconostoc* y *Saccharomyces*. En el género *Lactobacillus*, las siguientes especies poseen actividad probiótica: *L. acidophilus*, *L. crispatus*, *L. gasseri*, grupo *L. delbrueckii*, *L. salivarius*, *L. casei*, *L. paracasei*, grupo *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *L. reuteri*, *L. brevis*, *L. buchneri*, *L. fermentum*, *L. fructivorans*, *L. ruminis*, *L. sakei* y *L. vaginalis*. En realizaciones preferidas de la presente invención, las bacterias probióticas se seleccionan de las especies: *L. acidophilus*, *L. crispatus*, *L. gasseri*, grupo *L. delbrueckii*, *L. salivarius*, *L. casei*, *L. paracasei*, grupo *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *L. reuteri*, *L. brevis*, *L. buchneri*, *L. fermentum*, *B. adolescentis*, *B. angulatum*, *B. bifidum*, *B. breve*, *B. catenulatum*, *B. infantis*, *B. animalis*, *B. lactis*, *B. longum*, *B. pseudocatenulatum*, *S. thermophilus*, grupo *Sacch. cerevisiae* y combinaciones de las mismas.

En realizaciones preferidas, las bacterias probióticas usadas en la presente invención están comprendidas entre una y doce cepas, preferiblemente, de dos a seis cepas, y más preferiblemente, tres cepas. Las bacterias probióticas pueden estar en cualquier forma sólida. Preferiblemente, están en la forma de un polvo deshidratado fabricado por liofilización o por secado por atomización.

El recubrimiento comprende por lo menos un lípido vegetal, el cual tiene un punto de fusión aproximadamente entre 35°C y aproximadamente 75°C, de modo que el recubrimiento no se funda, ablande o degrade en integridad durante el proceso de fabricación de la cápsula de gel blando que contiene bacterias microencapsuladas, durante el almacenamiento del producto, o mientras hace tránsito a través del tracto gastroduodenal (estómago y duodeno), o en el pH bajo del estómago. En teoría, la cápsula de gel blando liberará el relleno que contiene las bacterias probióticas microencapsuladas en el cuerpo humano en el estómago, y luego sus contenidos se suministran al tracto intestinal; las bacterias probióticas sólo se activarán cuando se suministran al intestino, que tiene el pH apropiado para liberar el probiótico del recubrimiento, y después colonizará para el beneficio óptimo al huésped. En una modalidad preferida, el lípido vegetal tiene un punto de fusión entre aproximadamente 45°C y aproximadamente 65°C, más preferentemente entre aproximadamente 50°C y aproximadamente 60°C. En modalidades preferidas, el lípido vegetal es diestearato de poliglicerilo (tal como Plurol Stearique WL 1009), palmitoestearato de glicerilo (tal como Precirol Ato 5), ácidos grasos saturados (tal como Revel C), grasas vegetales hidrogenadas de origen no láurico y grasas de palma hidrogenadas, estearina y combinaciones de los mismos. Más preferentemente, el lípido vegetal es poliglicerol éster, grasa de palma hidrogenada, dipalmitoestearato de glicerol o poligliceril-6-distearato CAS 61725-93-7, también conocido como Plurol Stearique WL1009, o una combinación de los mismos.

Opcionalmente, las bacterias probióticas pueden recubrirse con más de una capa, es decir, doble, triple, etc., siendo cada capa un recubrimiento separado y diferente sobre las bacterias probióticas, siendo por lo menos una de las capas uno o una combinación de los lípidos enlistados anteriormente. En esta realización, cada recubrimiento se aplica en las bacterias probióticas en sucesión. Por ejemplo, puede aplicarse un recubrimiento doble a las bacterias probióticas. Los recubrimientos múltiples pueden aumentar la protección de las bacterias probióticas del agua libre presente en el interior de la cápsula de gel blando. En la solicitud de patente italiana No. RM2009A000104, en trámite junto con la presente, se explica un recubrimiento doble.

El proceso de la primera realización de la invención comprende la etapa de suspender las bacterias probióticas microencapsuladas en una formulación de la suspensión para elaborar un relleno. La formulación de la suspensión de la presente invención puede prepararse de acuerdo con cualquier técnica conocida en el arte. Sin limitarse a una teoría particular, se cree que la formulación de la suspensión limita efectivamente el contacto entre las bacterias microencapsuladas y el agua libre ingresa desde la cubierta de la cápsula de gel blando hacia el ambiente interno, lo que conduce a una viabilidad y estabilidad mejorada de las bacterias probióticas. La formulación de la suspensión

puede ajustarse a un espesor apropiado para mantener la suspensión del polvo y asegurar una mezcla homogénea. Alguien ordinariamente capacitado en la técnica entendería fácilmente el espesor requerido y cómo ajustar el espesor de la suspensión.

5 En una realización de la presente invención, la formulación de la suspensión comprende por lo menos un aceite, una grasa de suspensión o un emulsificante. En una realización adicional, la formulación de la suspensión comprende por lo menos un aceite y por lo menos un material seleccionado del grupo que consiste de grasas de suspensión, emulsificantes y combinaciones de los mismos. En una realización preferida, la formulación de la suspensión consta de por lo menos un aceite y por lo menos una grasa de suspensión; en otra modalidad preferida, la formulación de la suspensión consta de por lo menos un aceite y por lo menos un emulsificante; en aún otra modalidad preferida, la formulación de la suspensión comprende por lo menos uno entre un aceite, una grasa de suspensión y un emulsificante. En ciertas realizaciones, la grasa de suspensión se usa como un espesante del aceite y para asegurar homogeneidad de la formulación de la suspensión.

15 Los aceites adecuados para uso en la presente invención incluyen, sin limitación, aceite de soja, aceite de canola, aceite de girasol, aceite de macadamia, aceite de cacahuate, aceite de semilla de uva, aceite de semilla de calabaza, aceite de semilla de lino, aceite de linaza, aceite de oliva, aceite de maíz, aceite de cártamo, aceite de ajonjolí, aceite de semilla de pino, ácido linoleico conjugado, aceite de almendra, aceite de semilla de durazno, aceite de semilla de albaricoque, aceite de nogal, aceite de semilla de colza, aceite de semilla de frambuesa, aceite de semilla de arándano, aceite de semilla de arándano agrio, aceite de semilla de granada y aceites de semillas de otras frutas, aceite de espinillo amarillo, aceite de chía, aceite de perilla, aceite de diacilglicerol (DAG), fuentes de omega 3 derivadas de vegetales, fuentes fermentadas de ácido eicosapentaenoico (EPA), fuentes fermentadas de ácido docosahexaenoico (DHA), fuentes fermentadas de una combinación de EPA, DHA y otros omega 3, que incluyen aceite de pescado y aceite de kril, fuentes de ácido gamma-linolénico (GLA) y/o ácido estearidónico (SA), aceite de coco fraccionado y combinaciones de los mismos. Las fuentes de DHA, EPA y ALA incluyen, pero no se limitan a, aceites de pescado, levaduras u otros microorganismos o fuentes monocelulares y aceites vegetales, principalmente linaza, soja y canola. Las fuentes de GLA incluyen, pero no se limitan a, aceite de onagra, aceite de semilla de grosella negra, aceite de borraja y aceite de echium.

20 Las grasas de suspensión adecuadas para uso en la presente invención incluyen, sin limitación, monoglicéridos de ácido graso, diglicéridos de ácidos grasos, cera de abeja, monoestearato de glicerilo, mono dioleato de glicerilo, derivados de aceite de palma fraccionado, grasa de palma hidrogenado, derivados de aceite de soja hidrogenado, mantecas vegetales, triglicéridos de cadena media (MCT) y combinaciones de los mismos.

25 Los emulsificantes apropiados para el uso en la presente invención incluyen, sin limitación, lecitina, polisorbatos, mono oleatos de sorbitán y combinaciones de los mismos.

35 En algunas realizaciones, el relleno contiene preferentemente de aproximadamente 0,5% hasta aproximadamente 50% en peso de bacterias probióticas microencapsuladas y de aproximadamente 50% hasta aproximadamente 99,5% en peso de formulación de la suspensión.

40 El proceso de la primera realización de la invención comprende la etapa de mezclar el relleno a una baja intensidad y baja temperatura, para elaborar un relleno mixto. El mezclado se lleva a cabo a una baja intensidad y baja temperatura, para no comprometer la integridad, es decir, dañar del recubrimiento de las bacterias probióticas, y también la integridad celular de las bacterias probióticas. El mantenimiento de la integridad del recubrimiento y el tamaño de partícula de las bacterias probióticas microencapsuladas es un aspecto clave de la viabilidad y estabilidad mejorados de las bacterias probióticas logrado por la presente invención.

45 La integridad de las estructuras celulares de las bacterias probióticas y del recubrimiento de las bacterias probióticas puede analizarse mediante análisis microscópico, para determinar si se mantiene intacta y sin daño. La combinación de una estructura y un recubrimiento celular intactos conduce a bacterias probióticas viables que son capaces de colonizar. Esta capacidad de colonizar puede medirse mediante el recuento viable total en cfu/g y puede verificarse por medio del análisis de la composición bacteriana fecal después del tratamiento.

50 "Baja intensidad", como se usa en la presente invención, se refiere al mezclado a una velocidad de menos de aproximadamente 3000 rpm (aproximadamente 50 Hz). La baja intensidad también se relaciona con la selección del tipo de aspa, del mezclador y del tamiz de mezcla. De preferencia, el tipo de aspa, del mezclador y del tamiz de mezcla se seleccionan para minimizar no solo el esfuerzo cortante en la suspensión, sino también para lograr una suspensión homogénea estable y reducir la aglomeración y el tamaño de partícula sin causar daño al recubrimiento sobre las bacterias probióticas. Alguien ordinariamente capacitado en la técnica sería capaz fácilmente de seleccionar un tipo de aspa apropiado, un mezclador y un tamiz de mezcla para una baja intensidad y un bajo corte. La intensidad del mezclado y del corte se pueden controlar mediante una combinación de factores entendidos fácilmente por alguien capacitado en la técnica. El equipo de mezcla apropiado para el uso en la presente invención incluye, sin limitación, por ejemplo, agitadores de ancla o agitadores de mezclado contra estáticos con o sin equipo

de emulsificación/homogeneización aparejado, y recipientes de mezclado, que incluyen los recipientes de mezclado del mezclador Beco y Skermann, y los mezcladores Ross y Silverson equipados con espas apropiadas o tamices de mezcla. "Baja temperatura", como se usa en la presente invención, se refiere a una temperatura aproximadamente menor a 33°C. La temperatura se mantiene aproximadamente por debajo de 33°C, de modo que las bacterias probióticas se mantienen inactivas, de forma tal que la vida útil no se inicia hasta que se tragan los geles blandos y la temperatura corporal activa las bacterias probióticas cuando se suministran en el destino pretendido. Manteniendo la temperatura baja, se mantiene la viabilidad y la estabilidad de las bacterias probióticas y el recubrimiento. Preferiblemente, la temperatura baja del mezclado se mantiene entre aproximadamente 15°C y aproximadamente 32°C, más preferentemente, entre aproximadamente 20°C y aproximadamente 30°C, y más preferentemente, aproximadamente a 25°C.

El proceso de la primera realización de la invención comprende la etapa de reducir los aglomerados de las bacterias probióticas microencapsuladas en el relleno mixto para elaborar un relleno desaglomerado. "Reducir aglomerados", en parte, significa reducir el tamaño de las partículas y separar las partículas, que se encuentran adheridas. El relleno desaglomerado se desaglomera preferiblemente, de tal forma que las bacterias probióticas microencapsuladas se hayan separado predominantemente entre sí. Asimismo, este relleno desaglomerado es más preferiblemente una formulación de relleno homogénea y uniforme formada con un tamaño de partícula controlado, lo cual permite una encapsulación y suministro efectivo de cápsulas de gel blando de buena calidad. Las partículas de las bacterias probióticas microencapsuladas deben ser desaglomeradas y reducidas a un tamaño apropiado para encapsulación. La desaglomeración puede realizarse por cualquier medio conocido, pero debe llevarse a cabo de tal manera que se mantenga la integridad del recubrimiento sobre las bacterias probióticas, de forma que las bacterias probióticas se mantengan protegidas del agua libre que ha emigrado en la cápsula de gel blando y suministrará bacterias probióticas viables al sitio destinado en el cuerpo humano. El proceso de desaglomeración se lleva a cabo preferiblemente, de tal forma que se mantenga la integridad de la estructura celular de las bacterias probióticas, de forma que se mantengan viables a través del proceso de fabricación, almacenamiento e ingestión y se liberen y activen apropiadamente en el estómago.

En algunas realizaciones, la reducción de los aglomerados se hace por molienda. En las realizaciones preferidas, la reducción del aglomerado, preferiblemente por molienda, se lleva a cabo a temperaturas menores de 33°C y, preferiblemente aproximadamente a 25°C. Además, esta etapa se lleva a cabo preferiblemente en un ambiente de baja humedad, que significa preferiblemente, una humedad aproximadamente por debajo del 20%, y más preferiblemente, aproximadamente por debajo del 18% de humedad. En las realizaciones preferidas, la reducción del aglomerado, preferiblemente por molienda, separa las partículas que pueden haberse aglomerado en las etapas precedentes, creando así un relleno sustancialmente homogéneo.

En una cierta realización, la molienda se realiza usando una máquina molidora de tres rodillos con el ajuste de la abertura y la velocidad controlados para manejar el calor introducido al relleno. Cualquier otro equipo, de molienda o de otro tipo, conocido en la técnica, puede usarse para la reducción del aglomerado, siempre y cuando se controlen igualmente la temperatura, la energía, el oxígeno y el agua que ingresan para manejar el calor introducido al relleno. Preferiblemente, se evita completamente el ingreso de agua y de oxígeno durante la molienda. En una cierta realización, la reducción de los aglomerados es un proceso de múltiples partes de molienda y desaireación. La desaireación puede realizarse al vacío, lo que extrae aire o burbujas de gas, y el vacío será interrumpido bajo atmósfera de nitrógeno, o cualquier gas apropiado, para reducir la exposición al oxígeno. En todas las etapas del procesamiento descritas en la presente invención, pueden tomarse acciones para reducir la aireación y la humedad del relleno con el propósito de producir un relleno encapsulado con alta homogeneidad y estabilidad. Si queda atrapado aire en el relleno, esto puede causar problemas de oxidación, una estabilidad reducida y problemas de encapsulación.

La reducción de los aglomerados se refiere a la estandarización del diámetro promedio de partícula de las bacterias probióticas microencapsuladas y/o a la desaglomeración los aglomerados de partículas formados durante el proceso de fabricación. El tamaño del diámetro de partícula promedio después de la desaglomeración puede estar entre aproximadamente 150 micras hasta aproximadamente 250 micras, preferiblemente aproximadamente 200 micras, teniendo, de preferencia teniendo cada una de las bacterias probióticas microencapsuladas un tamaño de diámetro de partícula aproximadamente menor a 550 micras, más preferiblemente aproximadamente menor a 500 micras, aún más preferiblemente aproximadamente menor a 400 micras y lo más preferible, con al menos aproximadamente 90% de las partículas con un tamaño de diámetro entre aproximadamente 350 micras y 50 micras.

El proceso de la primera realización de la invención comprende la etapa de encapsular el relleno desaglomerado en una cápsula de gel blando. La encapsulación del relleno desaglomerado en una cápsula de gel blando puede realizarse usando cualquier método o equipo de fabricación conocidos en la técnica. Por ejemplo, las cápsulas de gel blando pueden fabricarse usando una máquina de encapsulación de troquel rotatorio. Además, la cápsula de gel blando puede elaborarse de cualquier material conocido en la técnica. Como un ejemplo no limitante, la cápsula de gel blando puede elaborarse usando tecnología de encapsulación de troquel rotatorio estándar e incorporando materiales de recubrimiento que puedan ser masticados o tragados, elegidos de una mezcla de materiales, que

incluyen, pero no se limitan a gelatina, glicerina, almidones nativos o modificados, fuentes de sorbitol, agua, tecnología VEGICAPS^{MR} SOFT usando una selección de carragenina, almidón modificado, glicerina y/o fuentes de sorbitol, agua y fosfatos de sodio.

5 En una realización preferida de la primera modalidad de la presente invención, el proceso se lleva a cabo mientras que se controla la exposición al oxígeno. Esto se hace para proteger las bacterias probióticas microencapsuladas de la oxidación y aumentar la estabilidad de las bacterias probióticas. El control de la exposición al oxígeno puede significar llevar a cabo etapas para no introducir oxígeno adicional, llevar a cabo etapas para reducir la cantidad de oxígeno presente y llevar a cabo etapas para evitar el oxígeno completamente. Las etapas para controlar la exposición al oxígeno pueden ser diferentes para cada una de las etapas del proceso de la invención o las mismas para las etapas en masa. El control de la exposición al oxígeno se entiende fácilmente y puede llevarse a cabo por cualquier medio conocido por alguien capacitado en la técnica. En una cierta realización preferida, cada una de las etapas del proceso se lleva a cabo bajo atmósfera de nitrógeno, es decir, una manta de nitrógeno continua.

15 Opcionalmente, el proceso de la primera realización de la invención comprende la etapa de secado doble de la cápsula de gel blando rellena. Se usa un proceso de secado doble para controlar el proceso de secado, de modo que la cápsula de gel blando no se caliente excesivamente y se activen las bacterias probióticas. En una realización preferida, el secado doble se lleva a cabo mediante una primera etapa de colocación de las cápsulas de gel blando en un secador de tambor con ventilación forzada. En realizaciones más preferidas, el secador de tambor se mantiene a una temperatura de aproximadamente 20°C y una humedad de aproximadamente 18% hasta aproximadamente 30%, y más preferentemente, de aproximadamente 20%.

20 En una realización preferida, el secado doble se lleva a cabo mediante una segunda etapa de secado de las cápsulas de gel blando en bandejas, lugares u hornos, a una temperatura de aproximadamente 18°C hasta aproximadamente 25°C, de preferencia de aproximadamente 20°C, y una humedad relativa controlada, típicamente entre aproximadamente 8% y aproximadamente 20%.

25 En general, alguien capacitado en la técnica sabe que las cápsulas de gel blando se secan hasta la dureza deseada y el contenido de agua de la cubierta, específicamente adecuado para el tamaño de la cápsula y la densidad del relleno. Se puede determinar la dureza usando un probador de dureza Bareiss, y el contenido de agua de la cubierta puede determinarse midiendo la humedad usando los métodos de titulación de Karl Fisher.

30 En la primera realización de la invención, se mantiene la integridad del recubrimiento de las bacterias probióticas microencapsuladas. En realizaciones preferidas, se reduce la aglomeración de las partículas de bacterias probióticas microencapsuladas en el relleno mixto sin comprometer la integridad del recubrimiento o de la estructura celular de las bacterias probióticas dentro del recubrimiento. Es importante mantener la integridad del recubrimiento para mantener las bacterias probióticas fuera de contacto con el agua libre dentro de la cápsula de gel blando, lo que conduce a una menor viabilidad. Mantener la integridad del recubrimiento se refiere a un recubrimiento, el cual no se ha desgastado, roto o adelgazado sustancialmente en ningún sitio del mismo, de modo que las bacterias probióticas entrarían en contacto directo con la formulación de la suspensión dentro de la cápsula. Comprometer la integridad del recubrimiento, por el contrario, se refiere a un recubrimiento que se ha adelgazado, fracturado o afectado de cualquier manera, de modo que las bacterias probióticas entrarían en contacto directo con la formulación de la suspensión dentro de la cápsula. El mantenimiento de la integridad de la estructura celular de las bacterias probióticas, se refiere a la estructura celular, que no se ha deformado o desgarrado. Por el contrario, comprometer la integridad de la estructura celular de las bacterias probióticas dentro de las capas de recubrimiento se refiere a deformar, desgarrar, raspar o torcer la estructura celular, de modo que se debilita. La estructura celular comprometida puede conducir a células que no tienen la capacidad de colonizar en el intestino cuando se liberan allí.

45 En una realización preferida, la cápsula blanda microencapsulada es estable durante al menos aproximadamente 24 meses a temperatura ambiente. La estabilidad de la cápsula se refiere al mantenimiento de las unidades de formación de colonias (CFU) de las bacterias probióticas dentro de la cápsula después de un cierto periodo de tiempo. También puede referirse a la satisfacción de la actividad probiótica (cfu/g) representada sobre la etiqueta del producto al final de su vida útil. Las cápsulas de gel blando estables mantienen un recuento total de células viables de al menos aproximadamente 10% o más, del valor de entrada inicial por cápsula, y más preferiblemente, al menos aproximadamente 20% de la entrada inicial por cápsula después de aproximadamente 24 meses a temperatura ambiente. En otra realización, las cápsulas de gel blando estables mantienen un recuento total de células viables entre aproximadamente 10% y aproximadamente 95% del valor inicial de entrada por cápsula, y más preferiblemente, entre aproximadamente 20% y aproximadamente 85% de la entrada inicial por cápsula, después de aproximadamente 24 meses a temperatura ambiente. El valor inicial de entrada está preferiblemente entre aproximadamente 1 billón hasta aproximadamente tres billones de CFU y, más preferentemente, aproximadamente dos billones de CFU.

En la presente invención, “temperatura ambiente” se refiere preferiblemente a una temperatura entre aproximadamente 15°C hasta aproximadamente 30°C, más preferiblemente aproximadamente 20°C hasta aproximadamente 25°C y una humedad entre aproximadamente 20% y aproximadamente 75%, y más preferiblemente aproximadamente 50% hasta aproximadamente 60%. La estabilidad a temperatura ambiente es importante para los consumidores y, en general, no se proporciona en la técnica, ya que la mayoría de los productos deben mantenerse refrigerados a fin de mantener la viabilidad de las bacterias probióticas.

En ciertas modalidades preferidas, el empaque de las cápsulas de gel blando probióticas proporciona una protección mejorada contra el agua (humedad), oxígeno, luz y otras influencias tóxicas. Este empaque soporta y protege la estabilidad de las cepas probióticas microencapsuladas y otros ingredientes en el relleno de las cápsulas de gel blando. Los empaques preferidos incluye, pero no se limitan a, empaques tipo blíster con propiedades de barrera apropiadas, contenedores de plástico o de metal con o sin un desecante y vasijas de vidrio que usan preferiblemente una tapa de sellamiento de inducción con o sin un desecante. El empaque tipo blíster preferido puede incluir una película blíster triple de diferentes tipos, tales como películas de alta barrera y estándar, que incluyen, por ejemplo, Flexafarm Sbc triple (por ejemplo, PVC 250my+PE 25my+PVDC 150 g/mq grado sbc) y Aquaba-PVC (por ejemplo, PVC 250my+AQUABA 160 g/mq), Aclar, formatos Alu - Alu, lámina blíster de capa triple (OPA) con aluminio templado blando en la posición central, otras capas de PVC y poliamida, y materiales combinados blíster multicapa de nueva generación. Los recipientes plásticos preferidos pueden elaborarse de cualquier material plástico apropiado, por ejemplo, HDPE (polietileno de alta densidad), PP (polipropileno) y PET (tereftalato de polietileno) y también pueden incluir un desecante integrado o separado y/o miniempaques o películas que absorben oxígeno. Las botellas de vidrio preferidas pueden ser de vidrio coloreado, selladas por inducción, tienen una tapa plástica o metálica, y un desecante o una provisión absorbente de oxígeno. Los contenedores metálicos preferidos pueden incluir vasijas de aluminio, tubos o botellas, los cuales pueden ser sellados por inducción, tienen una tapa plástica o metálica y/o tienen un desecante o una provisión absorbente de oxígeno.

En la segunda realización de la invención, se elabora una cápsula de gel blando probiótico de acuerdo con el proceso de: (a) proporcionar las bacterias probióticas microencapsuladas con al menos un recubrimiento que comprende al menos un lípido vegetal que tiene un punto de fusión entre aproximadamente 35°C y aproximadamente 75°C; (b) suspender las bacterias probióticas microencapsuladas en una formulación de la suspensión para elaborar un relleno; (c) mezclar el relleno a una baja temperatura y baja presión para elaborar un relleno mixto; (d) reducir los aglomerados de las bacterias probióticas microencapsuladas en el relleno mixto, para elaborar un relleno desaglomerado; y (e) encapsular el relleno desaglomerado en una cápsula de gel blando, en donde se mantiene la integridad del recubrimiento de las bacterias probióticas microencapsuladas.

Los detalles observados anteriormente con respecto a las etapas de procesamiento, es decir, recubrimiento, suspensión, mezclado, reducción de aglomerados, etc., son los mismos para la segunda realización de la descripción que para la primera realización de la descripción. Asimismo, los detalles observados anteriormente con respecto al control de la exposición al oxígeno y la estabilidad de la cápsula de gel blando de la primera realización, son los mismos que para la segunda realización.

La presente invención no se limita a ninguna bacteria probiótica específica o formulación de la suspensión, sino que resuelve el problema de la viabilidad y estabilidad sostenidas de las bacterias probióticas en los productos, y en particular, a temperatura ambiente. Los siguientes ejemplos ilustrarán el proceso de la presente invención en algunas de las realizaciones preferidas. Otras realizaciones dentro del alcance de las reivindicaciones serán evidentes para alguien capacitado en la técnica.

Ejemplo 1

Se fabricó una cápsula de gel blando que contiene bacterias probióticas microencapsuladas de acuerdo con la presente invención. Se recubrieron *Lactobacillus plantarum* LPO1 y *Bifidobacterium breve* BR03 con una monocapa de diestearato de poliglicerilo (Plurol Stearique WL1009) de acuerdo con el proceso descrito en la solicitud de patente Italiana No. RM2009A000104. Para la formulación de la suspensión, se fundió cera de abejas en aceite de soja aproximadamente a 65°C. Se añadió luego lecitina de soja a la mezcla y se enfrió la formulación combinada a menos o aproximadamente a 25°C. Se suspendieron las bacterias probióticas microencapsuladas en la formulación de la suspensión enfriada del aceite de soja, la cera de abejas y la lecitina de soja y se mezclaron a menos de 30°C durante 10 minutos. La Tabla a continuación muestra la cantidad de cada componente presente en el relleno. Se molió luego el relleno mixto usando una máquina de molienda de tres rodillos, manteniendo la temperatura por debajo de 30°C durante 10 minutos y el relleno molido pasó a través de un tamiz que tiene un espacio de 600 micras, al vacío y bajo atmósfera de nitrógeno para evitar la oxidación de la formulación.

Se encapsuló luego el relleno molido en una cápsula de gelatina blanda usando una máquina de encapsulación de troquel rotatorio estándar de la siguiente manera: se cargaron el relleno molido y el material de la cubierta en recipientes separados conectados a la máquina. La máquina preparó a partir del material de la cubierta fundida dos bandas de listones sólidos, que fueron enfriados y lubricados con una mezcla de MCT y lecitina. Se dirigieron las

bandas en la posición de dos troqueles de rotación que tienen bolsillos específicos del tamaño y forma requeridos para la formación de la cápsula. La contrarrotación continua de los troqueles opuestos formó luego un sello entre los dos listones que están en contacto con los troqueles, mientras se inyectaba simultáneamente el material de relleno en el cuerpo de la cápsula así formada. Por último, la rotación continua de los troqueles corta la cápsula recientemente formada del listón.

Se dividieron posteriormente las cápsulas de gel blando en dos lotes, y se secó cada lote en dos etapas. Primero, se secó un lote de las cápsulas de gel blando mediante un proceso estándar, es decir, se colocó en un secador de tambor con ventilación forzada, tomando el aire del ambiente externo, con una humedad relativa de aproximadamente 20% y 20°C durante 80 minutos. Se secó el segundo lote de las cápsulas de gel blando mediante un proceso más lento, es decir, colocándolo en un secador de tambor con ventilación forzada, tomando el aire del ambiente externo, con una humedad relativa de aproximadamente 20% y 20°C durante 122,5 minutos. En la segunda etapa, se colocaron las cápsulas de gel blando de cada lote en bandejas y se apilaron en cabinas de secado que tienen una ventilación especial con aire seco y acondicionado con una humedad relativa de aproximadamente 20% y 20°C. Se secaron las cápsulas de gel blando hasta una dureza estabilizada de 10 N, medida usando el probador de dureza Bareiss.

Cada lote de cápsulas preparadas de gel blando se dividió en tres grupos, con un grupo almacenado en botellas de vidrio oscuras con tapas de aluminio, el segundo grupo almacenado en bolsillos triples tipo blíster, y el tercer grupo almacenado a "granel", lo que significa que las cápsulas de gel blando se almacenaron en bolsas de celofán, de capa triple, impermeables. Los tres grupos de las cápsulas de gel blando se almacenaron a 25°C y se evaluaron los parámetros, los cuales predicen en forma confiable la estabilidad posterior de las cepas a través de la vida útil, después de 6 meses y después de 18 meses de almacenamiento. Se analizaron la integridad de la estructura celular de las bacterias probióticas y del recubrimiento mediante análisis microscópico. Si la estructura celular y el recubrimiento de las bacterias probióticas permanecen intactos, las bacterias probióticas viables son capaces de colonizar. Esta capacidad se mide mediante el recuento viable total en cfu/g y se puede verificar por el análisis de la composición bacteriana fecal después del tratamiento. Se fabricó la cápsula de gel blando que contiene las bacterias probióticas microencapsuladas para contener dos billones de CFU por cápsula (como la suma de las dos cepas) para 24 meses de vida útil a temperatura ambiente. La Tabla 3 más abajo muestra los lotes de las cápsulas de gel blando que se prepararon y las Tablas 4 y 5 muestran los resultados de la evaluación de la estabilidad.

Tabla 1

Ingrediente	Cantidad/cápsula (mg/cápsula)
<i>Lactobacillus plantarum</i> LP01 (LMG P-21021) (recubiertas con una monocapa)	5x10 ¹¹ CFU/cps*
<i>Bifidobacterium breve</i> BR03 (DSM 16604) (recubiertas con una monocapa)	5x10 ¹¹ CFU/cps*
Aceite de soja	390,0**
Lecitina de soja	2,0
Cera de abejas	58,0**
* Esta cantidad fue la potencia medida del lote específico.	
**Esta cantidad proporcionó la densidad adecuada de la suspensión para encapsulación.	

Ejemplo 2

Se fabricó un relleno molido para contener las bacterias probióticas microencapsuladas de acuerdo con la presente invención. Se recubrieron con una monocapa de diestearato de poliglicerilo (Plurol Stearique WL1009) los *Lactobacillus plantarum* LP01 y *Bifidobacterium breve* BR03, de acuerdo con el proceso descrito en la solicitud de patente italiana No. RM2009A000104. Para la formulación de la suspensión, se calentó aceite de soja a aproximadamente 65°C. Se añadieron luego lecitina de soja y monoestearato de glicerilo a la mezcla y se enfrió la formulación combinada a menos de o aproximadamente a 25°C. Se suspendieron las bacterias probióticas microencapsuladas en la formulación de la suspensión enfriada de aceite de soja, monoestearato de glicerilo y lecitina de soja y se mezcló a menos de 30°C durante 10 minutos. La Tabla 2 a continuación muestra la cantidad de

cada componente presente en el relleno. Se molió luego el relleno mixto usando una máquina de molienda de tres rodillos a menos de 30°C durante 10 minutos y se pasó el relleno molido a través de un tamiz que tiene un espaciado de 600 micras, al vacío y bajo atmósfera de nitrógeno.

- 5 Se analizó la estabilidad inicial de las bacterias probióticas microencapsuladas dentro del relleno molido mediante análisis microscópico para verificar la integridad del recubrimiento y la estructura celular de las bacterias probióticas. Se calculó el número de las bacterias probióticas recubiertas como la diferencia entre el número total de bacterias probióticas y las bacterias probióticas no recubiertas. Estos resultados de la prueba mostraron una estabilidad inicial similar que los resultados de la estabilidad inicial para el relleno molido del Ejemplo 1, por ejemplo, sin daño significativo a la estructura celular de las bacterias probióticas o el recubrimiento.
- 10 El relleno molido encapsulado del Ejemplo 2 tendría resultados similares al los del Ejemplo 1. Por lo tanto, no se encapsuló el Ejemplo 2 o se estudió adicionalmente la estabilidad de un gel blando que contenía tal relleno.

Tabla 2

Ingrediente	Cantidad/cápsula (mg/cápsula)
<i>Lactobacillus plantarum</i> LP01 (LMG P-21021) (recubiertas con una monocapa)	5x10 ¹¹ CFU/cps*
<i>Bifidobacterium breve</i> BR03 (DSM 16604) (recubiertas con una monocapa)	5x10 ¹¹ CFU/cps*
Aceite de soja	429,0**
Lecitina de soja	2,0
Monoestearato de glicerilo (GMS)	27,2**
* Esta cantidad fue la potencia medida del lote específico.	
** Esta cantidad proporcionó un espesor apropiado de la suspensión para la encapsulación.	

Ejemplo comparativo 1

- 15 Se fabricó una cápsula de gel blando que contiene bacterias probióticas microencapsuladas de acuerdo con el proceso del Ejemplo 1, excepto porque se encapsuló el relleno mixto sin ser sometido a una etapa de molienda (reducción del aglomerado). Sin molienda, las cápsulas de gel blando producidas son de menor calidad y tienen mayores pérdidas. Se pueden añadir etapas de procesamiento adicionales para reducir las pérdidas en otras formas, pero estas etapas aumentarían los costos en una cantidad potencialmente comercialmente inaceptable.
- 20 Las cápsulas de gel blando se dividieron posteriormente en dos lotes, y cada parte se secó en dos etapas. Primero, se secó un lote de las cápsulas de gel blando mediante un proceso estándar, es decir, se colocó en un secador de tambor con ventilación forzada, tomando el aire desde el ambiente externo, con una humedad relativa aproximadamente del 20% y 20°C durante 48 minutos. Se secó el segundo lote de las cápsulas de gel blando mediante un proceso más lento, es decir, se colocó en un secador de tambor con ventilación forzada, tomando el
- 25 aire del ambiente externo, con una humedad relativa aproximadamente del 20% y 20°C durante 122,5 minutos. En la segunda etapa, se colocaron las cápsulas de gel blando de cada lote en bandejas y se apilaron en cabinas de secado que tienen una ventilación especial con aire seco y acondicionado. Se secaron las cápsulas de gel blando hasta una dureza estabilizada de 9 N medida usando un probador de dureza Bareiss.
- 30 Cada lote de las cápsulas de gel blando preparadas se dividió en tres grupos, con un grupo almacenado en botellas de vidrio oscuras con tapas de aluminio, el segundo grupo almacenado en bolsillos triples tipo blíster, y el tercer grupo almacenado a "granel". Los tres grupos de las cápsulas de gel blando se almacenaron a 25°C y se evaluaron los parámetros, los cuales predicen confiablemente la estabilidad posterior de las cepas por medio de la vida útil, después de 6 meses y de 18 meses de almacenamiento. Se analizó la integridad de la estructura celular de las bacterias probióticas y del recubrimiento mediante análisis microscópico. Se calculó el número de las bacterias probióticas recubiertas como la diferencia entre el número total de bacterias probióticas y las bacterias probióticas no recubiertas. Si la estructura celular y el recubrimiento de las bacterias probióticas permanecen intactos, las bacterias probióticas viables son capaces de colonizar.
- 35

Se fabricó la cápsula de gel blando que contiene las bacterias probióticas microencapsuladas para contener dos billones de CFU por cápsula (como la suma de las dos cepas) para 24 meses de vida útil a temperatura ambiente. La Tabla 3 a continuación muestra los lotes de las cápsulas de gel blando que se prepararon y las Tablas 4 y 5 muestran los resultados de la evaluación de la estabilidad después de 6 y 18 meses, respectivamente.

5

Tabla 3

Código	Proceso de preparación del relleno	Secado doble		Empaque
		Secado primario	Secado secundario	
Ejemplo 1	Con molienda	Secador estándar	Cabinas de secado	A granel
		Secador estándar		Botella de vidrio oscuro
		Secador estándar		Blíster triple
		Secador lento		A granel
		Secador lento		Botella de vidrio oscuro
		Secador lento		Blíster triple
Ejemplo 2	Solo ensayo de banco	No se realizó	No se realizó	No se realizó
Ejemplo comparativo 1	Sin molienda	Secador estándar	Cabinas de secado	A granel
		Secador estándar		Botella de vidrio oscuro
		Secador estándar		Blíster triple
		Secador lento		A granel
		Secador lento		Botella de vidrio oscuro
		Secador lento		Blíster triple

Tabla 4

Código del empaque	Proceso	Recuento de células viables a tiempo cero (10 ⁹ CFU/g)	Estabilidad a largo plazo a 25°C, 6 meses*			
			Células totales (10 ⁹ CFU/g)	Células recubiertas (10 ⁹ CFU/g)	% de células recubiertas	Vida media (días)
Ejemplo 1 (granel)	Con molienda / secador estándar	20,3	13,8	13,05	94,6	375
Ejemplo 1 (botella)		19,2	13,2	12,9	97,7	387

ES 2 500 046 T3

(continuación)

Código del empaque	Proceso	Recuento de células viables a tiempo cero (10 ⁹ CFU/g)	Estabilidad a largo plazo a 25°C, 6 meses*			
			Células totales (10 ⁹ CFU/g)	Células recubiertas (10 ⁹ CFU/g)	% de células recubiertas	Vida media (días)
Ejemplo 1 (blíster)		20,1	14,7	14,5	98,6	463
Ejemplo 1 (granel)	Con molienda / secador lento	18,9	13,3	13,05	98,1	412
Ejemplo 1 (botella)		20,6	14,8	14,36	97,0	438
Ejemplo 1 (blíster)		19,5	14,2	13,6	95,8	457
Ej. comp. 1 (granel)	Sin molienda / secador estándar	19,8	13,4	12,97	96,8	371
Ej. comp. 1 (botella)		19,3	13	12,45	95,8	367
Ej. comp. 1 (blíster)		21,1	14,8	14,5	98,0	408
Ej. comp. 1 (granel)	Sin molienda / secador lento	20,3	12,8	12,15	94,9	314
Ej. comp. 1 (botella)		19,1	13,3	12,3	92,5	400
Ej. comp. 1 (blíster)		20	13,7	12,9	94,2	383
*La duración real del almacenamiento fue de 209 días.						

Tabla 5

Código del empaque	Proceso	Recuento de células viables a tiempo cero (10 ⁹ CFU/g)	Estabilidad a largo plazo a 25°C, 18 meses*			
			Células totales (10 ⁹ CFU/g)	Células recubiertas (10 ⁹ CFU/g)	% de células recubiertas	Vida media (días)
Ejemplo 1 (granel)	Con molienda / secador estándar	20,3	7	6,7	95,7	365
Ejemplo 1 (botella)		19,2	6,7	6,4	95,5	369
Ejemplo 1 (blíster)		20,1	6,6	5,9	89,4	349
Ejemplo 1 (granel)	Con molienda / secador lento	18,9	6,0	5,5	91,7	338
Ejemplo 1 (botella)		20,6	6,8	6,4	94,1	350
Ejemplo 1 (blíster)		19,5	6,2	5,5	88,7	339
Ej. comp. 1 (granel)	Sin molienda / secador estándar	19,8	6,1	5,5	90,2	330
Ej. comp. 1 (botella)		19,3	5,8	5,2	89,7	323
Ej. comp. 1 (blíster)		21,1	5,6	5,3	94,6	293
Ej. comp. 1 (granel)	Sin molienda / secador lento	20,3	5,8	5,3	91,4	310
Ej. comp. 1 (botella)		19,1	6,3	6,0	95,2	350
Ej. comp. 1 (blíster)		20	5,5	5,2	94,5	301
* La duración real de almacenamiento fue de 560 días.						

5 Los datos de estabilidad después de 6 meses mostrados en la Tabla 4 y después de 18 meses en la Tabla 5 ilustran que la estabilidad de las bacterias probióticas en geles blandos después de la molienda, es generalmente superior que las bacterias probióticas en las muestras que no se molieron, y la molienda tiene una influencia mayor sobre la estabilidad que el tipo de secado. Cada uno de los tipos de empaque seleccionados proporcionó una protección apropiada contra la oxidación y otros efectos nocivos potenciales sobre la estabilidad. La Tabla 4 también muestra que un alto porcentaje de células recubiertas (>90%) permanece a los 6 meses. Asimismo, la Tabla 5 muestra que

un alto porcentaje de células recubiertas (>88%) permanece en cada tipo de empaque probado a los 18 meses. Esto sugiere que las células viables presentes incluso después de 18 meses eran muy robustas.

Además, los resultados anteriores muestran que la molienda de acuerdo con la presente invención no causa más daño al recubrimiento sobre las bacterias probióticas que la preparación del proceso sin molienda (Ejemplo Comparativo 1). Dado que la molienda es una etapa importante en el proceso de fabricación de una cápsula de gel blando que es comercialmente aceptable, por ejemplo, para mantener costos razonables, para reducir las pérdidas, etc., la molienda sin dañar el recubrimiento sobre las bacterias probióticas es un beneficio importante de la presente invención.

Ejemplo 3

Se fabricó una cápsula de gel blando que contiene bacterias probióticas microencapsuladas de acuerdo con el proceso del Ejemplo 1, pero sobre un lote completo escalado. Se mezclaron las cápsulas de gel blando usando el equipo de mezclado de escala completa. Se desaireó el material de relleno al vacío y se interrumpió el vacío con nitrógeno. Este proceso facilita evitar la presencia de gas atrapado (principalmente oxígeno) en el producto final, que a su vez ayuda a reducir la oxidación de cualquier oxígeno remanente potencial después de la encapsulación. Además, este proceso ayuda a garantizar la uniformidad del contenido de la dosis entre las cápsulas. Luego se encapsuló este material de relleno y se secó usando un proceso estándar, es decir, colocar las cápsulas de gel blando en un secador de tambor con ventilación forzada, tomando el aire desde el ambiente externo, con una humedad relativa aproximadamente del 20% y 20°C durante 135 minutos. En la segunda etapa de secado, se colocaron las cápsulas de gel blando de cada lote en bandejas y se apilaron en cabinas de secado que tienen una ventilación especial con aire seco y acondicionado. Se secaron las cápsulas de gel blando hasta una dureza estabilizada de 9 N, medida usando el probador de dureza Bareiss y menos de 20% de ERH (Humedad Relativa en Equilibrio).

Se dividieron las cápsulas de gel blando secas en tres grupos, con un grupo almacenado en botellas de vidrio oscuras con tapas de aluminio, el segundo grupo se almacenó en bolsillos de triple blíster, y el tercer grupo se almacenó en recipientes Duma de plástico. Los tres grupos de las cápsulas de gel blando se almacenaron a 25°C durante 3 meses y se analizaron los parámetros para evaluar su robustez. La integridad de la estructura celular de las bacterias probióticas y del recubrimiento se probó mediante análisis microscópico. Se calculó el número de bacterias probióticas recubiertas como la diferencia entre el número total de bacterias probióticas y las bacterias probióticas no recubiertas. Si la estructura celular y el recubrimiento de las bacterias probióticas permanecen intactos, las bacterias probióticas viables son capaces de colonizar. Se fabricó la cápsula de gel blando que contiene las bacterias probióticas microencapsuladas para proporcionar el objetivo de dos billones de CFU por cápsula (como la suma de las dos cepas) para 24 meses de la vida útil a temperatura ambiente.

La Tabla 6 muestra el procesamiento, secado y empaque del Ejemplo 3. Para probar la robustez del lote del Ejemplo 3, se tomaron las muestras a través del proceso de fabricación del lote de escala completa y también después de 1 mes y 3 meses de almacenamiento para mostrar la mayor estabilidad obtenida a través del procesamiento cuidadoso (Tabla 7) y a través del empaque selectivo (Tabla 8). Se controlaron cuidadosamente y se hizo seguimiento a la temperatura y a las velocidades de mezclado.

Tabla 6

Código del lote	Proceso	Tipo de secado primario	Tipo de secado secundario	Empaque
Ejemplo 3, Lote a escala completa	Molienda & Desaireación	Secado lento	Cabinas de secado	Botella de vidrio oscuro con tapa de aluminio
				Botella plástica
				Blíster triple

ES 2 500 046 T3

Tabla 7

En las muestras del proceso: Fabricación de lotes a escala completa	Especificación de la velocidad de mezclado	Velocidad de mezclado medida	Temperatura de la mezcla	Recuento teórico de células viables totales (10^9 CFU/g)	Recuento real de células viables totales (10^9 CFU/g)
Suspensión después de 10 minutos de mezclado	Menos de 3000 rpm (50 hz)	25,6 Hz	23°C	20	18,7
Suspensión después de 17 minutos de mezclado	Menos de 3000 rpm (50 hz)	32,2 Hz	25°C	20	19,3
Suspensión después de tamizado & desaireación. Parte superior del recipiente	N/A	N/A	25°C	20	19
Suspensión después de tamizado & desaireación. Parte inferior del recipiente	N/A	N/A	25°C	20	22
Cápsulas después del secado primario	N/A	N/A	N/A	20	21
Cápsulas después del secado secundario	N/A	N/A	N/A	20	21

Tabla 8

Identificación de la muestra	Recuento de células viables a T cero (10^9 CFU/g)	Estabilidad a largo plazo a 25°C		
		1 mes		3 meses**
		Días de almacenamiento	Recuento de células viables (10^9 CFU/g)	Recuento de células viables (10^9 CFU/g)
Ej. 3 (blíster)				
Células totales	21	32	19,3	16,5
Células recubiertas totales	17,1	31	16,5	14
% de recubiertas	81,4	-	85,5	84,8
Ej. 3 (botella de vidrio)				
Células totales	18,7	32	17,4	15,1
Células recubiertas totales	15	31	14,7	13,5
% de recubiertas	80,2	-	84,5	89,4

(continuación)

Identificación de la muestra	Recuento de células viables a T cero (10^9 CFU/g)	Estabilidad a largo plazo a 25°C		
		1 mes		3 meses**
		Días de almacenamiento	Recuento de células viables (10^9 CFU/g)	Recuento de células viables (10^9 CFU/g)
Ej. 3 (botella plástica)				
Células totales	19	32	17,8	15,6
Células recubiertas totales	16,1	31	15,4	13,6
% de recubiertas	84,7	-	86,5	87,2
**La duración real del almacenamiento fue de 87 días.				

5 La Tabla 8 ilustra que después de 1 mes, y después de 3 meses de almacenamiento después de la escala del lote completo, permanecieron alrededor de 80% de las células recubiertas. La comparación del porcentaje de las células recubiertas que permanecen después del almacenamiento del Ejemplo 1, mostrado en las Tablas 4 y 5, con el porcentaje de células recubiertas que permanecen después del almacenamiento del Ejemplo 3, se asume siempre algo de reducción en el porcentaje cuando se escala el proceso. Los resultados logrados aquí fueron positivos, dado que más del 80% permaneció aún después de 3 meses de almacenamiento (Tabla 8). Por lo tanto, el escalado del lote total no afectó negativamente de forma significativa la viabilidad de las bacterias probióticas.

Ejemplo 4

15 Se fabricó una cápsula de gel blando que contiene las bacterias probióticas microencapsuladas de acuerdo con el proceso del Ejemplo 3, excepto porque los tres grupos, con un grupo almacenado en botellas de vidrio oscuras con tapas de aluminio, el segundo grupo almacenado en bolsillos de blíster triple, y el tercer grupo almacenado en recipientes de plástico Duma, se dividieron en tres subgrupos, con el subgrupo almacenado a 25°C durante 3 meses, el segundo subgrupo almacenado a 30°C durante 3 meses y el tercer subgrupo almacenado a 33°C durante 3 meses.

Tabla 9

Identificación de la muestra	Recuento de células viables a T cero (10^9 CFU/g)	Datos de estabilidad para 3 meses**		
		25°C	30°C	33°C
Ej. 4 (blíster)				
Células totales	21	16,5	15,0	3.4
Células recubiertas totales*	17,1	14,0	12,9	2.7
% de recubiertas	81,4	84,8	86,0	79.4
Ej. 4 (botella de vidrio)				
Células totales	18,7	15,1	13,0	4.1

(continuación)

Identificación de la muestra	Recuento de células viables a T cero (10 ⁹ CFU/g)	Datos de estabilidad para 3 meses**		
		25°C	30°C	33°C
Células recubiertas totales*	15	13,5	11,5	3,8
% de recubiertas	80,2	89,4	88,5	92,7
Ej. 4 (botella plástica)				
Células totales	19	15,6	14,0	3,1
Células recubiertas totales*	16,1	13,6	12,4	2,8
% de recubiertas	84,7	87,2	88,6	90,3

** La duración real del almacenamiento fue de 87 días.

Tabla 10

Identificación de la muestra	Días de almacenamiento	Recuento de células viables a T cero (10 ⁹ CFU/g)	Datos de estabilidad para 1 mes			
			25°C	30°C	33°C	37°C
Ej. 4 (blíster)						
Células totales	32	21	19,3	18,2	13,9	8,4
Células recubiertas totales*	31	17,1	16,5	15,7	12,6	8,1
% de recubiertas	-	81,4	85,5	86,3	90,6	96,4
Ej. 4 (botella de vidrio)						
Células totales	32	18,7	17,4	17	12,8	6,8
Células recubiertas totales*	31	15	14,7	14,2	11,3	6,3
% de recubiertas	-	80,2	84,5	83,5	88,3	92,6
Ej. 4 (botella plástica)						
Células totales	32	19	17,8	17,3	13,4	6,3
Células recubiertas totales*	31	16,1	15,4	15	12	5,9
% de recubiertas	-	84,7	86,5	86,7	89,6	93,7

5

Las Tablas 9 y 10 muestran que la temperatura durante el almacenamiento afecta la viabilidad de las cepas probióticas, por ejemplo, temperaturas de 33°C y mayores, tienen un claro impacto sobre la viabilidad de las cepas probióticas, aunque no se afectó la eficiencia del recubrimiento (%). Por lo tanto, se necesita controlar cuidadosamente los parámetros de temperatura y energía durante el almacenamiento. Puede entenderse que la

temperatura durante otras etapas de procesamiento, por ejemplo, molienda, también afecta la viabilidad de las cepas y deberían controlarse cuidadosamente para permanecer por debajo de 33°C. Por ejemplo, la Tabla 7 muestra que durante el escalado del lote completo, la temperatura del relleno no excedió de 25°C, y este parámetro controlado contribuyó a la estabilidad a largo plazo de las cepas probióticas.

- 5 Con base en los datos recolectados, los resultados escalados del lote completo (Ejemplo 3) confirma la robustez superior del proceso de fabricación de la cápsula de gel blando de la presente descripción. En conclusión, la estabilidad de las cepas probióticas se relaciona claramente con la integridad del recubrimiento como se demuestra mediante el estudio de la influencia de la temperatura sobre la estabilidad de las cepas (Ejemplo 4). A temperaturas elevadas, las células no recubiertas se degradan y, después de 1 mes a 37°C, las cepas vivas restantes están casi
- 10 todas recubiertas (>90%). El recubrimiento se diseña para suministrar la cepa probiótica en el intestino y permitir que se colonice en el intestino a la temperatura corporal. El aumento en la temperatura y la humedad pueden activar prematuramente la cepa probiótica antes de alcanzar el sitio de colonización pretendido, lo cual puede resultar en el fracaso para colonizar en el sitio objetivo y, a su vez, el fracaso para proporcionar el beneficio pretendido al cuerpo.
- 15 En conclusión, a partir de un análisis completo de los datos recolectados, parece que una cantidad satisfactoria de las bacterias probióticas procesadas de acuerdo con la presente descripción permanecerá viable a través de la vida útil. Podría asumirse a partir de estos datos que un recuento de células viables totales de al menos dos billones de CFU/cápsula permanecería en el tiempo de expiración (1 billón de cada cepa). Una concentración de bacterias probióticas microencapsuladas cinco veces menor que la cantidad de bacterias no recubiertas, es capaz de colonizar el intestino humano con la misma efectividad. Además, cuando se suministran las bacterias probióticas
- 20 microencapsuladas en el sitio de colonización pretendido en el intestino, hay 5 veces más probabilidad de colonización que las bacterias probióticas no recubiertas. Véase Del Piano, M., et al. (2010), Evaluation of the intestinal colonization by microencapsulated probiotic bacteria in comparison to the same uncoated strains, *Journal of Clinical Gastroenterology*, 44 Supp. 1: S42-6.
- 25 Por lo tanto, existen numerosas ventajas con el proceso de la presente invención. La cápsula de gel blando resultante que contiene bacterias probióticas microencapsuladas tiene una estabilidad inesperada, por ejemplo, CFU, y el número de bacterias probióticas recubiertas para un mejor suministro de las bacterias probióticas al sistema digestivo humano.

REIVINDICACIONES

1. Un proceso de fabricación de una cápsula de gel blando que contiene bacterias probióticas microencapsuladas, que comprende las etapas de:
- 5 (a) proporcionar bacterias probióticas microencapsuladas con al menos un recubrimiento que comprende por lo menos un lípido vegetal que tiene un punto de fusión entre aproximadamente 35°C y aproximadamente 75°C;
- (b) suspender las bacterias probióticas microencapsuladas en una formulación de la suspensión para elaborar un relleno;
- (c) mezclar el relleno a una intensidad menor a 3.000 rpm, y una temperatura por debajo de 33°C para elaborar un relleno mixto;
- 10 (d) reducir el tamaño de las partículas y separar las partículas de las bacterias probióticas microencapsuladas en el relleno mixto para elaborar un relleno desaglomerado que tiene un tamaño de partícula controlado adecuado para encapsulación; y
- (e) encapsular el relleno desaglomerado en una cápsula de gel blando,
- en donde se mantiene la integridad del recubrimiento de las bacterias probióticas microencapsuladas.
- 15 2. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde se lleva a cabo el proceso mientras se controla la exposición a oxígeno.
3. El proceso de acuerdo con la reivindicación 2, en donde la cápsula de gel blando que contiene las bacterias probióticas microencapsuladas es estable durante al menos 24 meses a temperatura ambiente.
- 20 4. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el tamaño de las partículas de las bacterias probióticas microencapsuladas se reduce y se separan las partículas moliendo el relleno mixto a una temperatura menor a 33°C.
5. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde las bacterias probióticas microencapsuladas, después de la encapsulación mantienen un tamaño promedio de diámetro de partícula entre 150 a 250 micras y menor a 550 micras.
- 25 6. El proceso de acuerdo con la reivindicación 5, en donde las bacterias probióticas microencapsuladas después de la encapsulación mantienen un tamaño promedio de diámetro partícula de 200 micras y cada una de las bacterias probióticas microencapsuladas tiene un tamaño de diámetro de partícula menor a 500 micras.
- 30 7. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde al menos un lípido vegetal se selecciona de éster de poliglicerol, grasa de palma hidrogenada, dipalmitoestearato de glicerol, poligliceril-6-distearato y combinaciones de los mismos.
8. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la formulación de la suspensión comprende al menos un aceite, una grasa de suspensión o un emulsificante.
- 35 9. El proceso de acuerdo con la reivindicación 8, en donde la formulación de la suspensión comprende al menos un aceite y al menos un material seleccionado de grasas de suspensión, emulsificantes y combinaciones de los mismos.
- 40 10. El proceso de acuerdo con la reivindicación 8, en donde al menos un aceite se selecciona de aceite de soja, aceite de canola, aceite de girasol, aceite de macadamia, aceite de cacahuate, aceite de semilla de uva, aceite de semilla de calabaza, aceite de semilla de lino, aceite de linaza, aceite de oliva, aceite de maíz, aceite de cártamo, aceite de ajonjolí, aceite de semilla de pino, ácido linoleico conjugado, aceite de almendra, aceite de semilla de durazno, aceite de semilla de albaricoque, aceite de nogal, aceite de semilla de colza, aceite de semilla de frambuesa, aceite de semilla de arándano, aceite de semilla de arándano agrio, aceite de semilla de granada y aceites de semillas de otras frutas, aceite de espinillo amarillo, aceite de chía, aceite de perilla, aceite de diacilglicerol, fuentes de omega 3 derivadas de vegetales, fuentes fermentadas de ácido eicosapentaenoico, fuentes fermentadas de ácido docosahexaenoico, fuentes fermentadas de una combinación de ácido eicosapentaenoico, ácido docosahexaenoico y otros omega 3, fuentes de ácido gamma-linolénico y/o ácido estearidónico, aceite de coco fraccionado y combinaciones de los mismos.
- 45

11. El proceso de acuerdo con la reivindicación 8, en donde las grasas de suspensión se seleccionan de monoglicéridos de ácidos grasos, diglicéridos de ácidos grasos, cera de abejas, monoestearato de glicerilo, mono dioleato de glicerilo, derivados de aceite de palma fraccionado, grasa de palma hidrogenada, derivados de aceite de soja hidrogenada, mantecas vegetales, triglicéridos de cadena media y combinaciones de los mismos.
- 5 12. El proceso de acuerdo con la reivindicación 8, en donde los emulsificantes se seleccionan de lecitina, polisorbatos, mono oleatos de sorbitán y combinaciones de los mismos.
13. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la mezcla se realiza a una temperatura entre 15°C y 32°C.
- 10 14. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la reducción del tamaño de las partículas y la separación de las partículas se lleva a cabo con el relleno desaglomerado mantenido la temperatura por debajo de 33°C y en un ambiente de baja humedad.
15. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende además la etapa de:
- (f) secado doble de la cápsula de gel blando rellena.
- 15 16. El proceso de acuerdo con la reivindicación 15, en donde el secado doble consta del secado de las cápsulas en un secador de tambor con ventilación forzada, seguido del secado de la cápsula en bandejas apiladas dentro de las cabinas de secado, en donde la temperatura es de 18°C a 25°C y la humedad relativa es del 8% al 20%.
17. Una cápsula de gel blando probiótico obtenida de acuerdo con el proceso de cualquiera de las reivindicaciones 1 - 3.